

УДК 616.711/.714-001-092.19]-092.9

Р. М. Борис

УКРАЇНСЬКИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ ІНСТИТУТ МЕДИЦИНИ ТРАНСПОРТУ МОЗ УКРАЇНИ, ОДЕСА

## ДИНАМІКА ФЕРМЕНТАТИВНОЇ ЛАНКИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ПЕРІОД ГОСТРОЇ РЕАКЦІЇ НА ПОЄДНАНУ КРАНІОСКЕЛЕТНУ ТРАВМУ

*У період гострої реакції на краніоскелетну травму (перші 24 год посттравматичного періоду) вже через 2 год відмічається виснаження ферментативної ланки антиоксидантного захисту: активність супероксиддисмутази і каталази тканини печінки знижується, що спостерігається впродовж усього експерименту. Характерною рисою їх динаміки є підвищення активності супероксиддисмутази через 12 год із наступним зниженням через 24 год та протилежні коливання активності каталази із максимальним зниженням через 12 год і підвищенням через 24 год. В умовах додаткової кровотечі активність обох ферментів у тканині печінки досягає мінімальної величини через 2 год і залишається на такому ж рівні впродовж усього експерименту. Вміст у сироватці церулоплазміну, незалежно від тяжкості краніоскелетної травми, збільшується через 2 год і залишається стабільно високим впродовж експерименту.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** краніоскелетна травма, ферментативний антиоксидантний захист.

**ВСТУП.** Утворення активних форм кисню й інтенсифікація пероксидного окиснення ліпідів належать до вагомих ланок патогенезу тяжкої травми [1, 4]. Цьому насамперед сприяють розвиток запалення та міграція нейтрофілів до зони пошкодження [3]. Захисна функція останніх реалізується через екстраклітинну продукцію активних форм кисню (респіраторний вибух) та внутрішньоклітинну генерацію радикалів кисню для елімінації мікроорганізмів у фагосомі [14].

Постійним супутником тяжкої травми є кровотеча. В умовах кровотечі збільшується базальний киснезалежний метаболізм нейтрофілів, що супроводжується ще більшим зростанням спонтанної продукції активних радикалів кисню [10, 12]. Крім цього, кровотеча зумовлює гіпоксію, яка призводить до зміни умов функціонування дихального ланцюга, що збільшує можливість одноелектронного відновлення кисню [11].

На тлі проведення інтенсивної терапії та лікувального гемостазу у хворих із кровотечею можуть наростати ознаки прооксидантної активації нейтрофілів. Така ситуація настає внаслідок розвитку синдрому ішемії-реперфузії, що супроводжує відновлення кровотоку, і асоціюється із зростанням у крові рівня метаболітів

арахідонової кислоти, прозапальних цитокінів та хемокінів [8].

Нейтралізація активних форм кисню здійснюється ферментативною ланкою антиоксидантного захисту, серед них провідне місце відводиться супероксиддисмутази, каталазі та церулоплазміну [11]. Збільшення їх активності вказує на інтенсивне утворення реакційно-здатних кисневих радикалів, а зниження на тлі накопичення продуктів пероксидного окиснення ліпідів – на виснаження ферментативної ланки антиоксидантного захисту. Їх динаміка в умовах окремо експериментальної черепно-мозкової і скелетної травм описана у ряді публікацій [5, 6], однак в умовах гострого періоду поєднаної краніоскелетної травми – вивчена недостатньо.

Метою роботи було з'ясувати динаміку ферментативної ланки антиоксидантного захисту в період гострої реакції на поєднану краніоскелетну травму.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Експерименти виконано на 68 нелінійних білих щурах-самцях масою 180–200 г, які утримувалися на стандартному раціоні віварію. Тварин поділили на 3 групи. Першу групу склали контрольні (інтактні) тварини (8 особин). Другу – 30 тварин, в яких під тіопентало-натрієвим наркозом

© Р. М. Борис, 2013.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

(40 мг·кг<sup>-1</sup>) моделювали закрити черепно-мозкову травму за методикою [5] у власній модифікації. Енергія удару становила 0,375 Дж, що відповідало травмі середнього ступеня тяжкості. Крім цього, спеціально розробленим пристроєм наносили удар по кожному стегну, внаслідок якого після однократного впливу викликали закритий перелом стегнових кісток. У третій дослідній групі додатково моделювали кровотечу зі стегнової вени (20–22 % об'єму циркулюючої крові), 1 мл якої ввели у порожнину живота для відтворення гематоми. З експерименту тварин виводили після наркотизації шляхом тотального кровопускання із серця через 2, 12 та 24 год після травми. Як об'єкт дослідження було обрано гомогенат печінки – ключовий орган, що відображає системний вплив тяжкої травми і розвиток поліорганної недостатності [2], та сироватку крові.

У тварин, які вижили, визначали показники ферментативної ланки антиоксидантного захисту за активністю супероксиддисмутази [13] і каталази [9] в гомогенаті тканини печінки, а також за вмістом у сироватці крові церулоплазміну [7].

Достовірність відмінностей між дослідними і контрольною групами оцінювали з використанням критеріїв Стюдента та Вілкоксона–Манна–Уїтні.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Як видно з таблиці, у відповідь на краніоскелетну травму відмічалася істотне зниження активності

супероксиддисмутази гомогенату печінки: через 2 год – у 3,6 раза ( $p < 0,001$ ), через 12 год – у 2,2 раза ( $p < 0,001$ ), через 24 год – у 2,9 раза ( $p < 0,001$ ). Аналіз динаміки даного показника показав, що через 12 год його величина істотно була більшою, ніж через 2 і 24 год (відповідно, на 65,7 і 31,8 %,  $p \leq 0,05$ ). Крім цього, активність супероксиддисмутази гомогенату печінки через 24 год була статистично достовірно більшою, ніж через 2 год (на 25,7 %,  $p \leq 0,05$ ).

Кровотеча на тлі краніоскелетної травми зумовлювала ще більше зниження активності даного ферменту: через 2 год – у 4,4 раза ( $p < 0,001$ ), через 12 год – у 2,9 раза ( $p < 0,001$ ), через 24 год – у 3,1 раза ( $p < 0,001$ ). Аналіз динаміки даного показника показав (рис. 1), що через 12 і 24 год його величина була статистично достовірно більшою, ніж через 2 год (відповідно, на 50,0 і 39,7 %,  $p \leq 0,05$ ).

Порівнюючи величину активності даного ферменту між групами з різними травмами, встановлено, що через 2 і 24 год істотних відмінностей не відмічалася ( $p > 0,05$ ). Разом з тим, через 12 год у групі з краніоскелетною травмою, поєднаною із кровотечею, активність супероксиддисмутази гомогенату печінки була статистично достовірно меншою: на 25,0 % ( $p < 0,05$ ).

У свою чергу, активність каталази гомогенату печінки в умовах краніоскелетної травми теж знижувалася (табл.): через 2 год – на 35,4 % ( $p < 0,001$ ), через 12 год – на 55,4 % ( $p < 0,001$ ), через 24 год – на 26,8 % ( $p < 0,001$ ).

Таблиця – Відхилення показників ферментативної ланки антиоксидантного захисту в динаміці періоду гострої реакції на краніоскелетну травму ( $M \pm m$ )

| Показник                                     | Контроль          | Модель | Термін посттравматичного періоду |                      |                      |
|--|-------------------|--------|----------------------------------|----------------------|----------------------|
|  |                   |        | 2 год                            | 12 год               | 24 год               |
| Супероксид-дисмутаза, мккат·кг <sup>-1</sup> | 0,253±0,011 (n=8) | КСТ    | 0,070±0,004*** (n=7)             | 0,116±0,007*** (n=6) | 0,088±0,007*** (n=6) |
|  |                   | КСТ+Кр | 0,058±0,007*** (n=6)             | 0,087±0,007*** (n=5) | 0,081±0,006*** (n=5) |
| p  |                   |        | >0,05                            | <0,05                | >0,05                |
| Каталаза, мккат·кг <sup>-1</sup>             | 6,28±0,24 (n=8)   | КСТ    | 4,06±0,12*** (n=7)               | 2,80±0,10*** (n=6)   | 4,60±0,18*** (n=6)   |
|  |                   | КСТ+Кр | 4,82±0,31*** (n=6)               | 3,52±0,13*** (n=5)   | 3,49±0,13*** (n=5)   |
| p  |                   |        | <0,05                            | <0,01                | <0,001               |
| Церулоплазмін, мг·л <sup>-1</sup>            | 9,36±0,24 (n=8)   | КСТ    | 17,84±0,78*** (n=7)              | 22,22±1,59*** (n=6)  | 18,50±1,00*** (n=6)  |
|  |                   | КСТ+Кр | 18,67±0,88*** (n=6)              | 23,79±1,11*** (n=5)  | 19,01±1,24*** (n=5)  |
| p  |                   |        | >0.05                            | >0.05                | >0.05                |

Примітки:

1) КСТ – краніоскелетна травма;

2) КСТ+Кр – краніоскелетна травма, поєднана із кровотечею;

3) \*\* – достовірність відмінностей стосовно контрольної групи (\* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ ; # –  $p < 0,10$ );

4) p – достовірність відмінностей між групами тварин із КСТ і КСТ+Кр.

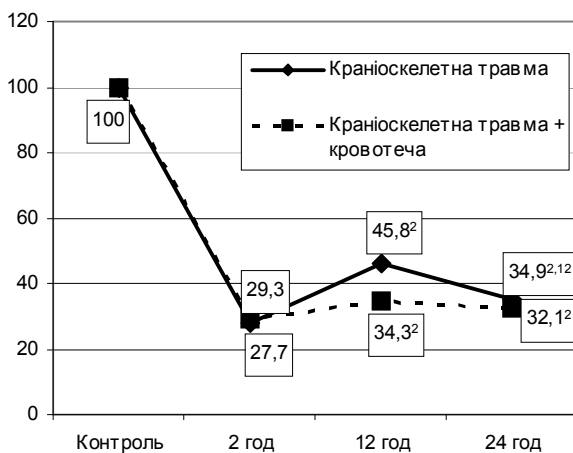


Рис. 1. Динаміка активності супероксиддисмутази тканини печінки (у відсотках до рівня контролю) в групах тварин з краніоскелетною травмою та аналогічною травмою, ускладненою кровотечею (тут і на інших рисунках: <sup>2</sup> – достовірність відмінностей стосовно другої години спостереження; <sup>12</sup> – стосовно дванадцятої години спостереження ( $p \leq 0,05$ )).

Аналіз динаміки даного показника показав (рис. 2), що активність каталази гомогенату печінки в умовах краніоскелетної травми досягала найменшої величини через 12 год посттравматичного періоду, що виявилось статистично достовірно меншим, ніж через 2 год (на 31,0 %,  $p \leq 0,05$ ), і в подальшому збільшувалася, що істотно перевищувало рівень другої і дванадцятої годин посттравматичного періоду (відповідно, на 13,3 і 64,3 %,  $p \leq 0,05$ ).

На тлі додаткової кровотечі (табл.) через 2 год після травми активність каталази гомогенату печінки знизилася на 23,2 % ( $p < 0,001$ ), через 12 год – на 46,0 % ( $p < 0,001$ ), через 24 год – на 44,3 % ( $p < 0,001$ ). Аналіз динаміки даного показника показав, що він через 12 і 24 год був статистично достовірно меншим, ніж через 2 год (відповідно, на 27,0 і 27,6 %,  $p \leq 0,05$ ).

Порівняння активності каталази гомогенату печінки в умовах різних травм показало, що через 2 і 12 год вона статистично достовірно була більшою у тварин з додатковою кровотечею (відповідно на 18,7 % ( $p < 0,01$ ) та на 25,7 % ( $p < 0,01$ )). Проте через 24 год активність каталази гомогенату печінки ставала істотно більшою у тварин із самою краніоскелетною травмою (на 31,8 %,  $p < 0,001$ ).

Вміст церулоплазміну в сироватці крові (табл.) в умовах краніоскелетної травми статистично достовірно збільшувався: через 2 год – на 90,6 % ( $p < 0,001$ ), через 12 год – на 137,4 % ( $p < 0,001$ ), через 24 год – на 97,6 % ( $p < 0,001$ ). Аналіз динаміки даного показника показав (рис. 3), що вже через 2 год він досягав максимальної величини й залишався практично

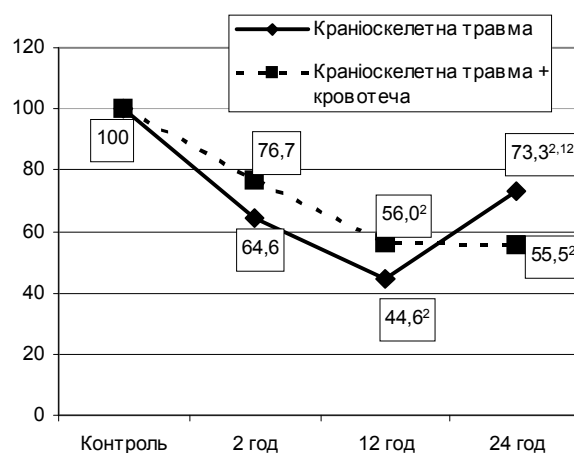


Рис. 2. Динаміка активності каталази тканини печінки (у відсотках до рівня контролю) в групах тварин з краніоскелетною травмою та аналогічною травмою, ускладненою кровотечею.

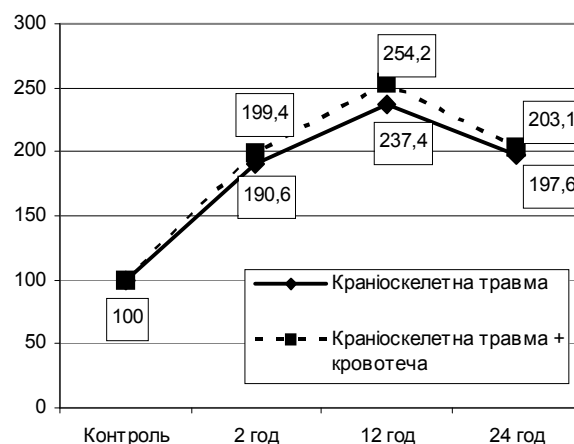


Рис. 3. Динаміка вмісту церулоплазміну в сироватці крові (у відсотках до рівня контролю) в групах тварин з краніоскелетною травмою та аналогічною травмою, ускладненою кровотечею.

на такому ж рівні впродовж експерименту. Вірогідність відмінностей даного показника була меншою від критичної величини ( $p > 0,05$ ).

Відхилення вмісту церулоплазміну в сироватці крові на тлі краніоскелетної травми, ускладненої кровотечею, було аналогічним (табл., рис. 3), як і у тварин без кровотечі, й статистично достовірно не відрізнялося ( $p > 0,05$ ).

Таким чином, активність ферментів антиоксидантного захисту супероксиддисмутази і каталази гомогенату печінки в умовах модельованих травм істотно знижується і залишається статистично достовірно меншою впродовж досліджуваного періоду гострої реакції на модельовані травми. На тлі самої краніоскелетної травми активність супероксиддисмутази досягає мінімального рівня через 2 год, в подальшому істотно збільшується через 12 год з подальшим повторним зниженням

через 24 год. Активність каталази в цій групі досягає мінімальної величини через 12 год із наступним збільшенням через 24 год. Протифазні коливання даних ферментів через 12 і 24 год експерименту, очевидно, свідчать про особливості ресинтезу цих ферментів і часового накопичення субстратів.

Характерною рисою їх динаміки в умовах додаткової кровотечі є досягнення стабільно низького рівня через 2–12 год, що вказує на більшу тяжкість травми і появу додаткових патогенних чинників, які призводять до накопичення активних форм кисню.

У свою чергу, вміст церулоплазміну в сироватці крові в обох дослідних групах зростає вже через 2 год і залишається стабільно високим упродовж експерименту. Як свідчать дані літератури [11], синтез церулоплазміну залишається тривало підвищеним, навіть при тяжких ураженнях, і розглядається як маркер системної відповіді організму на запалення.

**ВИСНОВКИ.** 1. У період гострої реакції на краніоскелетну травму (перші 24 год посттравматичного періоду) вже через 2 год відміча-

ється виснаження ферментативної ланки антиоксидантного захисту: активність супероксиддисмутази і каталази тканини печінки знижується, що спостерігається впродовж усього експерименту.

2. Характерною рисою їх динаміки є підвищення активності супероксиддисмутази через 12 год з наступним зниженням через 24 год та протилежні коливання активності каталази із максимальним зниженням через 12 год і підвищенням через 24 год.

3. В умовах додаткової кровотечі активність обох ферментів у тканині печінки досягає мінімальної величини через 2 год і залишається на такому ж рівні впродовж усього експерименту.

4. Вміст у сироватці церулоплазміну, незалежно від тяжкості краніоскелетної травми, збільшується через 2 год і залишається стабільно високим впродовж експерименту.

#### **Перспективи подальших досліджень**

У перспективі передбачається дослідження динаміки глутатіонової ланки антиоксидантної системи і відповіді на краніоскелетну травму різної тяжкості.

#### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Волотовська Н. В. Особливості реакції пероксидного окиснення ліпідів, антиоксидантного захисту, ендогенної інтоксикації та цитолізу під впливом травми різного ступеня тяжкості / Н. В. Волотовська, А. А. Гудима // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2012. – № 1(16). – С. 29–33.
2. Волотовська Н. В. Роль вільнорадикальних процесів у патогенезі ураження печінки в умовах скелетної травми різної тяжкості / Н. В. Волотовська, А. А. Гудима // Бюлетень XI читань Підвисоцького, 24–25 травня 2012 р. – Одеса, 2012. – С. 23–24.
3. Долгушин И. И. Нейтрофилы и гомеостаз / И. И. Долгушин. – Екатеринбург, 2001. – 315 с.
3. Ельский Е. Н. Избранные аспекты патогенеза и лечения травматической болезни / [В. Н. Ельский, В. Г. Климовицкий, С. Е. Золотухин и др.]. – Донецк : ООО "Лебедь", 2002. – 360 с.
5. Ельский В. Н. Моделирование черепно-мозговой травмы / В. Н. Ельский, С. В. Зяблицев. – Донецк : Новый мир, 2008. – 140 с.
6. Козак Д. В. Динаміка показників антиоксидантного захисту у відповідь на травму / Д. В. Козак // Шпитальна хірургія. – 2012. – № 3. – С. 60–64.
7. Колб В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – Минск : Беларусь, 1982. – 311 с.
8. Кондратенко П. Г. Острое кровотечение в просвет органов пищеварительного канала / П. Г. Кондратенко, Н. Л. Смирнов, Е. Е. Раденко. – Донецк, 2006. – 420 с.
9. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
10. Петухова О. В. Содержание липопротеидов и продуктов перекисного окисления липидов у больных в остром периоде политравмы / О. В. Петухова, И. М. Устьянцева, В. В. Агаджанян // Политравма. – 2006. – № 3. – С. 65–68.
11. Свободнорадикальные процессы в биосистемах / [Т. Н. Попова, А. Н. Пашков, А. В. Семенихина и др.]. – Воронеж, 2008. – 192 с.
12. Сулаева О. М. Динаміка функціонального стану нейтрофілів у пацієнтів з виразковими кровотечами / О. М. Сулаева // Таврический медико-биологический вестник. – 2011. – **14**, № 4, ч. 2. – С. 153–156.
13. Чевари С. Роль супероксиддисмутази в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах [Текст] / С. Чевари, И. Чаба, Й. Сокей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
14. Babior B. M. The neutrophil NADPH oxidase / B. M. Babior, J. D. Lambeth, W. M. Nauseef // Arch. Biochem. Biophys. – 2002. – **397**. – P. 342–344.

## ДИНАМИКА ФЕРМЕНТАТИВНОГО ЗВЕНА АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ПЕРИОД ОСТРОЙ РЕАКЦИИ НА СОЧЕТАННУЮ КРАНИОСКЕЛЕТНУЮ ТРАВМУ

### Резюме

В период острой реакции на краниоскелетную травму (первые 24 ч посттравматического периода) уже через 2 ч отмечается истощение ферментативного звена антиоксидантной защиты: активность супероксиддисмутазы и каталазы ткани печени снижается, что наблюдается на протяжении всего эксперимента. Характерной чертой их динамики являются повышение активности супероксиддисмутазы через 12 ч с последующим снижением через 24 ч и противоположные колебания активности каталазы с максимальным снижением через 12 ч и повышением через 24 часа. В условиях дополнительного кровотечения активность обоих ферментов в ткани печени достигает минимальной величины через 2 ч и остается на таком же уровне в течение всего эксперимента. Содержание в сыворотке церулоплазмينا, независимо от тяжести краниоскелетной травмы, увеличивается через 2 ч и остается стабильно высоким на протяжении эксперимента.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: краниоскелетная травма, ферментативная антиоксидантная защита.

R. M. Borys  
UKRAINIAN SCIENTIFIC RESEARCH INSTITUTE OF TRANSPORT MEDICINE OF MPH OF UKRAINE, ODESA

## THE DYNAMICS OF ENZYMATIC BRANCH OF ANTIOXIDANT PROTECTION DURING AN ACUTE REACTION TO A COMBINED CRANIO-SKELETAL TRAUMA

### Summary

During the acute response to cranio-skeletal trauma (first 24 hours of post-traumatic period) the depression of enzymatic branch of antioxidant protection is recognized after 2 hours of investigation: the activity of superoxide dismutase and catalase of liver tissue decreases, which are observed throughout the experiment. Main characteristic feature of these dynamics is the increasing of superoxide dismutase activity after 12 hours followed by its decreasing after 24 hours and opposite fluctuations in catalase activity with maximum reduction after 12 hours and increasing after 24 hours. Under the condition of additional bleeding, the activity of both enzymes in the liver tissue reaches a minimum value after 2 hours and remains at the same level throughout the experiment. Serum ceruloplasmin level increases after 2 hours regardless the severity of cranio-skeletal trauma and remains fixed high throughout the experiment.

KEY WORDS: cranio-skeletal trauma, enzymatic antioxidant defense.

Отримано 11.03.13

Адреса для листування: Р. М. Борис, Український науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ України, вул. Канатна, 92, Одеса, 65039, Україна.